

(19) 대한민국특허청 (KR)
(12) 공개특허공보 (A)

(51) . Int. Cl. 7
A61B 5/00

(11) 공개번호 특허 2001-0101687
(43) 공개일자 2001년 11월 14일

(21) 출원번호 10 - 2001 - 7009359
(22) 출원일자 2001년 07월 25일
번역문 제출일자 2001년 07월 25일
(86) 국제출원번호 PCT/US2000/01967
(86) 국제출원출원일자 2000년 01월 25일

(87) 국제공개번호
(87) 국제공개일자

(81) 지정국

국내특허 : 알바니아, 아르메니아, 오스트리아, 오스트레일리아, 아제르바이잔, 보스니아 - 헤르체고비나, 바베이도스, 불가리아, 브라질, 벨라루스, 캐나다, 스위스, 중국, 쿠바, 체코, 독일, 덴마크, 에스토니아, 스페인, 핀란드, 영국, 그루지야, 헝가리, 이스라엘, 아이슬란드, 일본, 케냐, 키르기즈, 북한, 대한민국, 카자흐스탄, 세인트루시아, 스리랑카, 라이베리아, 레소토, 리투아니아, 룩셈부르크, 라트비아, 몰도바, 마다가스카르, 마케도니아, 몽고, 말라위, 멕시코, 노르웨이, 뉴질랜드, 슬로베니아, 슬로바키아, 타지키스탄, 투르크메니스탄, 터키, 트리니다드토바고, 우크라이나, 우간다, 미국, 우즈베키스탄, 베트남, 폴란드, 포르투갈, 루마니아, 러시아, 수단, 스웨덴, 싱가포르, 아랍에미리트, 코스타리카, 도미니카연방, 모로코, 탄자니아, 남아프리카, 가나, 감비아, 크로아티아, 인도네시아, 인도, 시에라리온, 유고슬라비아, 짐바브웨, 그레나다,
AP ARIPO특허: 케냐, 레소토, 말라위, 수단, 스와질랜드, 우간다, 시에라리온, 가나, 감비아, 짐바브웨, 탄자니아,
EA 유라시아특허: 아르메니아, 아제르바이잔, 벨라루스, 키르기즈, 카자흐스탄, 몰도바, 러시아, 타지키스탄, 투르크메니스탄,
EP 유럽특허: 오스트리아, 벨기에, 스위스, 독일, 덴마크, 스페인, 프랑스, 영국, 그리스, 아일랜드, 이탈리아, 룩셈부르크, 모나코, 네덜란드, 포르투갈, 스웨덴, 핀란드, 사이프러스,
OA OAPI특허: 부르키나파소, 베냉, 중앙아프리카, 콩고, 코트디부아르, 카메룬, 가봉, 기네, 말리, 모리타니, 니제르, 세네갈, 차드, 토고, 기네비소,

(30) 우선권주장 09/237,153 1999년 01월 25일 미국 (US)

(71) 출원인 메사추세츠 인스티튜트 오브 테크놀로지
자밀라 제트. 허백
미국 02139 메사추세츠 캠브리지 메사추세츠 애브뉴 77

(72) 발명자 백맨,바덤
 미국02139메사추세츠캠브리지메모리얼드라이브550아파트먼트9이1
 다사리,라만찬드라,알.
 미국02421메사추세츠텍싱톤그레이트록로드6
 구르자르,라잔
 미국02139메사추세츠캠브리지메인스트리트3/897
 이츠칸,이르빙
 미국02116메사추세츠보스턴배콘스트리트330
 페렐만,레브
 미국02146메사추세츠브록클린그릭스로드#2194
 펠드,마이클,에스.
 미국02468메사추세츠뉴튼한클리로드56

(74) 대리인 남상선

심사청구 : 없음

(54) 조직의 편광 산란 스펙트로스코피

요약

본 발명은 조직의 특성을 측정하기 위한 편광의 용도에 관한 것이다. 더욱 특히, 편광은 기본 조직으로부터 확산적 산란광의 기여가 제거될 수 있는 반면 상기 조직으로부터의 후방산란광의 편광은 보존되기 때문에 조직의 형성장애를 검출하기 위해 사용될 수 있다. 광의 전달 및 수집을 위한 광섬유 시스템은 인체내에서 조직을 측정하기 위해 사용될 수 있다.

명세서

배경기술

90%가 넘는 암 병소의 기원은 상피이다. 결장직장, 식도, 방광, 경부 및 경구암과 같은 가장 통상적인 형태의 상피성 암 중 수 가지는 널리 정의되어 있는 검출가능한 이형성증이라 불리우는 전암 단계를 갖는다. 이형성증은 정의된 종양 유전자 및 종양 억제 유전자에서의 돌연변이의 연속적인 축적에 의해 특징된다. 검출되는 경우, 이형성 병소의 절대 다수는 치료가능하다. 상피성 암의 이러한 전암성 단계를 검출하고 치료하기 위한 임상적 노력이 사망율을 감소시키는 것으로 나타났다.

상피 이형성증의 진단은 일반적으로 폴립(polyp)과 같은 육안적 구조를 형성하지 않으며, 보통 암이 발병된 후에만 눈으로 볼 수 있기 때문에 여전히 어려운 실정이다. 상피 이형성증을 검출하는 표준 방법은 무작위 생검법 및 염색된 생검 물질의 병인 조사법을 기초로 한다. 그러나, 무작위 생검법은 높은 샘플링 에러를 갖는다. 많은 경우에, 상피 표면의 1% 미만이 이형성증의 위협에 처한 것으로 조사될 수 있다.

상피 이형성증의 모든 타입은 수 가지 공통 특성, 즉, 핵 대 세포질 비의 증가와 함께 상피 세포 핵의 확대, 및 상피 세포의 증가된 수 및 충화를 가진다. 이와 같이 특징화된 상피 세포의 변화에도 불구하고, 숙련된 병리학자 사이에서조차도 이러한 분류는 관찰자 상호의 높은 불일치율로 입증되는 바와 같이 어려웠다.

발명의 요약

상피 이형성증을 검출하는 비침입성 생체내 방법이 상피 표면의 감시를 위해 제공되며, 사람의 전암성 상태의 병적 진단 방법이 제공된다.

광학 기술은 비침입성이고, 조직 제거를 필요로 하지 않으며, 생체내에서 수행될 수 있기 때문에 무작위 생검에 대한 대체 기술로 적절하다. 또한, 광학 기술은 신속하고(실시간 처리로 적용될 수 있음), 상대적으로 저렴하고, 현미경 등급으로 작업할 수 있으며, 이에 따라 매우 적은 이형성 부위를 발견할 수 있다. 후자는 무작위 생검에 의해서는 간과될 가능성이 높다.

본 발명은 조직과 같은 혼탁 매질의 표면층에 있는 산란체에 대한 정보를 제공하기 위한 편광의 광산란 분광학에 관한 것이다. 이 방법은 형광 또는 흡광 스펙트럼 특성의 사용을 필요로 하지 않고 상피층과 같은 표면 조직의 산란 특성을 사용한다. 상기 방법은 사람 상피에서 큰 산란체(세포 핵)의 특성을 특징화할 수 있으며, 사람 조직에 대한 조직학적 정보를 제공하고 생체내 사람 기관에서 실시간으로 이형성증 진단을 할 수 있다.

상피 조직의 특성을 측정하고자 하는 비편광의 고산란 분광기에 대한 아이디어는 본원에서 참고문헌으로 인용되는 1997년 10월 10일자 출원된 미국 특허 출원 제 08/948,734호 및 1998년 10월 9일자 출원된 국제 출원 제 PCT/US98/21450호에 개시되어 있다. 상피에서 광 산란의 주요 센터는 주위 세포질의 굴절률보다 높은 굴절률을 갖는 미토콘드리아 및 핵과 같은 세포 기관이다. 표면 상피 세포 핵으로부터 후방산란된 광은 진동 파장 의존성 성분을 갖는다. 이러한 성분의 주기성은 핵 크기에 의해 증가하며, 이의 증폭은 핵의 밀도와 관련된다. 따라서, 진동 성분의 증폭 및 주파수를 분석함으로써 상피 핵의 밀도 및 크기 분포를 측정할 수 있다. 정상 핵은 특징적인 직경이 4-7 μm 이다. 대조적으로, 이형성 핵은 20 μm 정도로 클 수 있다. 핵 크기 및 밀도는 생물학적 조직에서 신생물성 전암성 변화의 중요한 지표이다. 생체내에서 실시간으로 핵 크기 분포를 측정하는 능력은 임상의학에서 귀중한 적용성을 갖는다. 이는 식도, 결장, 방광, 구강, 경부 등과 같은 다양한 사람 기관에서 전암성 변화의 진단을 비침입적으로 그리고 실시간으로 진단할 수 있게 한다.

상피는 인체의 기관 표면을 덮고 있다. 상피의 두께는 20 μm (단일 세포층)에서 수백 미크론(다중 세포층)에 이른다. 상피 하부에는 비교적 무세포 결합성 근조직의 층이 있다. 이형성증은 상피로 한정되기 때문에, 상피 및 하부 조직과 연관된 시그널 사이를 구별하는데 중요하다. 표면 상피 핵에 대한 정보를 담지하는 후방산란 성분은 점막 조직으로부터 반사된 광으로 존재한다. 그러나, 이는 보통 증폭이 매우 적고, 하부 조직으로부터의 확산 분산에 의해 형성된 백그라운드(background) 시그널에 의해 쉽게 마스킹된다. 이 성분을 분석하기 위해, 백그라운드 시그널은 제거되어야 한다. 이러한 백그라운드의 일반적인 스펙트럼 특성을 모델링함으로써 확산 백그라운드를 제거할 수 있다. 그러나, 실제 의학에서 보다 유용한 방법이 되도록, 그리고 생체내 실시간으로, 상이한 기관에서 이형성증을 진단할 수 있도록, 분산광의 확산 성분을 제거하거나 상당히 감소시키는 보다 확고한 방법을 개발할 필요가 있다.

본 발명은 편광 분광기를 사용하여 상피 세포의 분산 특성을 특징하는 방법을 제공한다. 초기 편광이 혼탁 매질(조직이 혼탁 매질의 예이다)을 통과하여 진행하는 동안 편광을 잃게 됨을 주목한다. 한편, 단일 산란 후에 후방에 산란된 광은 편광을 보존한다. 따라서, 산란된 광의 비편광 성분을 제거함으로써, 상피 세포에 의해 산란된 광을 구별할 수 있다. 잔류 스펙트럼이 추가로 분석되어 핵의 크기 분포 및 이의 밀도가 측정될 수 있다.

본 발명의 바람직한 구체예는 조직의 진단을 위한 광섬유 광 전달 및 수집 시스템을 포함한다. 광섬유 시스템은 근위 단부 및 원위 단부를 하우징하고 있는 프로브내에 하우징될 수 있으며, 원위 단부는 조직의 생체내 측정을 위해 인체의 여러 루멘에 삽입될 수 있다. 편광기는 전달 및 수집 섬유 모두의 원위 단부 상에 사용될 수 있다. 광의 편광을 보존하는 광섬유를 사용하는 경우, 편광기는 프로브의 근위 단부에 배치될 수 있다. 세가지 섬유 시스템에서, 프로브는 조직으로부터 회귀하는 광의 두가지 상이한 편광 성분을 수집하는 두개의 중심에서 벗어난 수집 섬유 및 중심 전달 섬유를 사용할 수 있다. 편광기는 석영, 사파이어 또는 방해석과 같은 복굴절 결정질 재료일 수 있다. 방해석은 작업 환경으로부터 밀봉되어야 한다.

도면의 간단한 설명

도 1은 편광 기재 광 분산 분광기 시스템의 바람직한 구체예를 도시한 것이다.

도 2a 및 도 2b는 각각 평행 편광 및 수직 편광(특징적인 헤모글로빈 경사각을 주목한다)에 대한 이층 조직 패턴(혈액 및 BaSO₄를 함유하는 겔의 상부 상의 폴리스티렌 비드)의 반사 스펙트럼이다.

도 3a 내지 도 3d는 (A) 수중의 4.56 μ m 비드(상대적 굴절률 n= 약 1.19), (B) 수중의 9.5 μ m 비드(n= 약 1.19), (C) 글리콜 중의 5.7 μ m 비드(n= 약 1.09), (D) 글리콜 중의 8.9 μ m 비드(n= 약 1.07)의 두가지 편광의 차를 도시한 것이며, 여기에서 시그널(점선)은 미 계산치(실선)와 양호하게 일치하며, 헤모글로빈의 흡광성이 완전히 제거된다.

도 4는 후방산란광의 편광(잔류) 성분의 스펙트럼이다: T84 결장암 세포에 대하여 편광된 후방산란에 대한 실험 데이터 대 미 계산치의 피트(ft). 여기에서 최상의 피트는 평균 크기가 10.2 μ m이고, 표준 편차가 1.5 μ m이고, 상대 굴절률이 1.045인 일련의 매개변수를 제공하며, 크기 및 표준 편차는 광 현미경을 사용하여 측정된 것들과 일치한다.

도 5는 후방산란광의 편광(잔류) 성분의 스펙트럼이다: 정상 장 세포에 대하여 편광된 후방산란에 대한 실험 데이터 대 미 계산치의 피트. 여기에서 최상의 피트는 평균 크기가 5.0 μ m이고, 표준 편차가 0.5 μ m이고, 상대 굴절률이 1.035인 일련의 매개변수를 제공하며, 크기 및 표준 편차는 광 현미경을 사용하여 측정된 것들과 일치한다.

도 6은 정상 장 세포와 T84 결장암 세포에 대한 핵 크기 분포를 보여주고 있으며, 각각의 경우에서 실선은 데이터로부터 얻은 분포이며, 점선은 광 현미경을 사용하여 측정된 분포이다.

도 7은 본 발명에 따라 조직의 생체내 광학 측정을 수행하기 위한 광섬유 프로브 시스템을 개략적으로 도시한 것이다.

도 8a 및 도 8b는 본 발명의 바람직한 구체예의 프로브의 원위 단부를 도시한 것이다.

도 9a 내지 도 9c는 본 발명에 따른 광섬유 프로브의 또 다른 바람직한 구체예를 도시한 것이다.

본 발명의 상기 목적 및 그 밖의 목적, 특징 및 이점은 하기 본 발명의 바람직한 구체예의 보다 구체적인 기술로부터 명백하게 될 것이며, 첨부되는 도면에서 유사 인용 부호는 상이한 측면을 통한 동일 부호를 언급하는 것이다. 도면은 반드시 비례적인 것은 아니며, 본 발명의 원리를 설명하는 경우에 강조될 수 있다.

발명의 상세한 설명

상피 세포의 특성을 측정하기 위해, 후방산란광의 측정된 스펙트럼을 모형 또는 대표되는 것에 상호관련시킬 수 있다. 임의적 크기의 구형 대상에 의해 산란되는 광의 문제점에 대한 정확한 해결책을 제공하는, 미 이론을 사용하여 산란체의 크기 및 상대적 굴절률이 측정될 수 있다.

입사편광에 대해, 직경d인 구형 입자에 의해 산란된 광은, 산란 평면에 대해 평행 편광성분 및 수직 편광성분을 갖는다. \hat{s}_0 방향으로의 평면 입사편파에 대해, \hat{s} 방향으로 산란된 광은 산란 평면에 대해 수평 편광성분(p) 및 수직 편광성분(s) 성분을 포함한다. 이들 성분의 세기 I_p 및 I_s 는 입사광의 세기 $I_p^{(0)}$ 및 $I_s^{(0)}$ 와 다음과 같이 관련된다:

$$I_p(\hat{s}) = 4 \frac{|S_1(\hat{s}, \hat{s}_0)|^2}{K^2 d^2} I_p^{(0)}(\hat{s}_0) \quad (1)$$

$$I_s(\hat{s}) = 4 \frac{|S_2(\hat{s}, \hat{s}_0)|^2}{K^2 d^2} I_p^{(0)}(\hat{s}_0) \quad (2)$$

상기식에서, k 는 입사광의 파수이고, S_{11} 및 S_{22} 는 미 이론(Mie theory)를 사용하여 산술적으로 계산될 수 있는 산란 진폭이며, s_{11} 및 s_{22} 는 입사광 및 산란된 광의 전파를 정의하는 단위 벡터이다. 산란 진폭은 산란 각 $\vartheta = \cos^{-1}(\hat{s} \cdot \hat{s}_0)$ 의 함수이며, 적분식 $\int_0^{\pi} (|S_{11}(\vartheta)|^2 + |S_{22}(\vartheta)|^2) \sin \vartheta d\vartheta$ 이 총 일래스틱 산란 단면과 같도록 표준화된다.

세기가 I_0 인 직선상의 입사편광이 입체각 $\Delta\Omega_0$ 로 분포되고, 산란이 입체각 $\Delta\Omega$ 에서 수집된다. 입사광의 편광, $\hat{\epsilon}_0$ 는 산란면(즉, \hat{s} 및 \hat{s}_0 에 의해 형성된 평면)중에서 성분 $\hat{\epsilon}_p$ 및 수직 성분 $\hat{\epsilon}_s$ 로 해체될 수 있다. 분석기를 이용하여, 본 발명자들은 두개의 수직하는 산란광 세기 성분, 즉 편광 $\hat{\epsilon}_s$ 를 갖는 I_{\parallel} 및 수직 편광 $\hat{\epsilon}_p$ 를 갖는 I_{\perp} 를 검출했다. 산란된 세기 성분은 하기 식으로 주어진다:

$$I_{\parallel} = \frac{2}{\pi k d^2} \int_{\Delta\Omega} \int_{\Delta\Omega_0} d\hat{s}_0 I_0(\hat{s}_0) |S_2(\hat{s}_0, \hat{s}) \cos \varphi \cos \varphi_0 + S_1(\hat{s}_0, \hat{s}) \sin \varphi \sin \varphi_0|^2$$

(3)

$$I_{\perp} = \frac{2}{\pi k d^2} \int_{\Delta\Omega} \int_{\Delta\Omega_0} d\hat{s}_0 I_0(\hat{s}_0) |S_2(\hat{s}_0, \hat{s}) \cos \varphi \sin \varphi_0 - S_1(\hat{s}_0, \hat{s}) \sin \varphi \cos \varphi_0|^2$$

(4)

입사광이 완전히 평행하게되는 경우($\Delta\Omega_0 \rightarrow 0$), 바로 뒤쪽으로 산란된 광은 입사편광 대해 평행하게 편광으로 된다. 이러한 경우, 본 발명자들은 분석기중 하나를 입사편광에 평행하게 배향시킬 수 있다 ($\hat{\epsilon}_0 \approx \hat{\epsilon}_s$). 입사광 및 수집된 광의 입체각이 충분히 작고 거의 같은 경우, I_{\parallel} 및 I_{\perp} 둘 모두가 존재한다. 그러나, 분석기는 여전히 ($\hat{\epsilon}_0 \approx \hat{\epsilon}_s$)가 되도록 배치될 수 있다. 이와 같이, 이 경우에 수집된 광은 여전히 고도로 분극성이고 $I_{\parallel} \gg I_{\perp}$ 이다. 이 경우에 있어, 잉여 세기, 즉 $-I_{\parallel}$ 는 하기와 같이 단순화될 수 있다:

$$I_{\parallel} - I_{\perp} \approx \frac{4I_0}{k d^2} \int_0^{\vartheta_0} \text{Re}(S_1^*(\vartheta) S_2(\vartheta)) \sin \vartheta d\vartheta$$

(5)

$$\vartheta_0 = \sqrt{\frac{\Delta\Omega}{2\pi}}$$

예컨대, 상피성 조직과 같이 크게 산란($d > \lambda$)된 얇은 층이 하부의 고도로 두터운 층을 피복하고 있는 두개의 산란 매질의 시스템을 고려한다. 이들 층 각각은 다른 형태의 산란을 일으킨다. 상기 두개의 층 시스템은 사람의 조직의 많은 광학적 특성을 나타내며, 제 1층은 상피와 관련되고 제 2층은 상피 아래의 다른 조직 층과 관련된다. 상기 상부의 층은 다중 산란을 제공할 수 없을 정도로 광학적으로 얇다. 직선상의 입사편광의 작은 부분이 상부 층에서 입자에 의해 뒤로 산란된다. 나머지 시그널은 광학적으로 두터운 제 2층으로 투과된다. 제 2층을 통한 광 전파는 다중 산란에 의해 불규칙적이된다. 이러한 확산성 광은 제 2층에 의해 흡수되지 않는 경우, 표면으로 되돌아 온다. 이와 같이, 발생하는 광은 두개의 기여부를 갖는다: 하나, 즉 I_{bb} 는 제 1층의 입자에 의해 뒤로 산란된 광으로부터의 것이고, 다른 하나 I_{dd} 는 제 2층으로부터 확산성으로 반사된 것이다. I_{bb} 는 입사광의 편광에 평행한 고도의 직선상 편광을 갖는다: $I_{bb} > I_{dd}$ 층에서의 다중 산란의 결과로서, 확산성으로 반사된 광은 탈편광이되고 I_{dd} 따라서, 발생하는 광의 잉여 세기 $I_{\parallel} = I_{bb} + I_{dd}$ 는 상부 층의 영향을 받으며, 하부 조직의 흡수 및 산란으로부터 실질적으로 자유롭다.

수식 (3) - (5)는 I_{\parallel} - I_{\perp} 와 산란 진폭 S_1 및 S_2 을 관련시킨다. 상기 진폭은 산란된 광 파장에 $\lambda = \pi / k$ 와 같이 의존하며, 산란기의 크기 d 및 굴절률과 주변 매질과의 비, 즉 상대 굴절률 n 에 의존한다. 따라서, 잉여 세기의 스펙트럼은 산란기의 크기 및 상대적 굴절률에 따라 변한다. 이와 같이, 산란기의 크기 및 굴절률은 수식 (3) - (5)를 이용하는 미 이론을 잉여 세기 스펙트럼에 적용함에 의해 얻을 수 있다.

생체외에서 절제된 조직을 측정하는 시스템(10)이 도 1에 제시된다. 상기 시스템(10)은 평행하게된 편광을 조직(12)에 전달하고, 뒤쪽으로 산란된 광의 두개의 수직 편광을 분리한다. 이들 두개의 성분의 차이는 단지 상피층에서 산란된 광에 대한 정보를 제공한다. 직선상의 편광은 임의의 매질을 통과하는 동안에 원형편광 보다 더 빠르게 탈편광이되므로, 직선상의 편광이 이용된다. 이러한 시스템은, 광역 공급원(250W 텅스텐 램프, 모델 66181, 오리엘 인스트루먼트, 인코포레이션, 스트래트포드, CT)으로부터 광이 평행으로 되게 하고, 작은 입체각으로 섬유(16), 렌즈(18), 및 개구(20)를 사용하는 샘플상에 다시 집중됨을 제공한다. 광역 편광 프리즘(22)은 빔(beam)이 빔스플리터를 통해 산란 매질의 표면에 전달되기 이전에 빔을 편광으로 한다. 빔은 스펙큘라 반사를 방지하기 위해 법선에 대해 약 15° 각도를 이루면서 샘플의 표면에 부딪힌다. 빔의 직경은 2mm 이다. 반사광은 개구(26)와 거울(28)을 지닌 협소한 원뿔 (약 0.015 라디안)에 수집되고, 두 개의 편광, 즉, 최초 편광에 평행한 I_{\parallel} 및 직각인 I_{\perp} 는 본 발명의 분석기로서 또한 작용하는 광대역 편광 빔 스플리터 큐브 (28) (Melles Griot, Inc.)에 의해 분리된다. 이 분석기로부터의 출력은 렌즈(30)와 200 μ m 광섬유(32,34) (Ocean Optics, Inc., Dunedin, FL)를 통해 다중채널 분광기(36) (quadruple spectroscopy, Model SQ200, Ocean Optics, Inc., Dunedin, FL)의 두 개 채널내로 전달된다. 이는 둘 모두의 성분이 300nm 내지 1200nm, 임의로 400nm 내지 900nm에서 동시에 측정될 수 있게 해준다.

빔은 완전하게 동일 선상에 있지 않으며, 이들 빔이 편광기와 분석기 큐브를 통과하는 경우, 소량의 일그러짐(distortion)이 발생한다. 또한, 빔 스플리터는 s 및 p 편광에 대해 상이한 반사도를 지닌다. 확산 반사 백색 표면을 표준으로서 사용하여 파장 불균일성을 교정하고 두 개 채널의 시그널을 조정하였다. $I_{\perp}(\lambda)$ 와 $I_{\parallel}(\lambda)$ 는 상응하는 백그라운드 스펙트럼에 대해 각각 정규화되었고, $I_{\perp}^B(\lambda)$ 와 $I_{\parallel}^B(\lambda)$ 는 상응하는 백그라운드 스펙트럼에 대해 각각 정규화되었고, $I_{\perp}^B(\lambda)$ 와 $I_{\parallel}^B(\lambda)$ 는 함께 결합하여 백색 확산 표면을 형성한다. 이는 광원에서의 스펙트럼 불균일성을 제거시켜준다. 따라서, 실험에 의해 하기와 같이 정규화된 잔여 세기 ΔI 가 실제로 측정되었다:

$$\Delta I = I_{\parallel} / I_{\parallel}^B - I_{\perp} / I_{\perp}^B \quad (5)$$

간단한 단일층 및 이중층 시스템에 대한 측정을 수행하여 작업 매개변수를 결정하였다. 단일층 시스템은 탈이온수, 글리콜 또는 글리세롤에 포매된 0.5 μ m 내지 10 μ m의 다양한 크기의 폴리스티렌 비드 (Polyscience, Inc.)를 포함하였다. 이러한 층의 두께는 광학적 두께 τ 가 0.1 내지 5가 되도록 변화하였다 (매질을 통해 전파되는 광자는 $\tau = 1$ 인 경우 평균 1회의 산란을 겪는다). 거대한 크기 (4 내지 10 μ m)의 비드를 사용하여 세포 핵을 나타내었다. 물 중의 폴리스티렌 비드의 상대 굴절률이 약 1.2 이고 (절대 굴절률은 약 $n=1.59$ 임), 이는 범위가 1.03 내지 1.1인 세포질에 대한 세포 핵의 굴절률보다 실질적으로 크므로, 글리콜 ($n_s=1.45$)과 글리세롤($n_s=1.48$)을 물 대신 사용하여 비드의 상대 굴절률을 감소시켜서 생물학적 조건에 보다 근접하게 만든다.

단일층 측정의 경우, 유입광과 동일한 편광 상태를 지닌 후방산란광의 성분 (I_{\parallel} 로 표시됨)은 유입광의 편광에 대해 직각인 편광을 지닌 성분 (I_{\perp} 로 표시됨)보다 거의 100배 컸다. 이것은 거대한 구형 입자로부터의 단일 산란이 편광을 보존함을 입증해준다.

2중층 모델을 이용한 측정의 경우, 제 1 층은 물, 글리콜 또는 글리세롤에 포매된 폴리스티렌 비드로 구성되며, 단일층 측정에서와 같이 제조되었다. 제 2 층은 제 2 층의 산란 특성을 제공하는 BaSO_4 분체와 사람 혈액의 용액을 함유하는 겔을 포함하였다. 혈액의 헤모글로빈 함량은 모델에 흡수 특성을 제공해 주었다. 이러한 물리적 모델은 상피 및 하부 조직을 의태하였다. BaSO_4 분체와 혈액의 농도를 조정함으로써, 산란 및 흡수 특성이 생물학적 조직의 산란 및 흡수 특성과 유사해질 수 있는데, 이는 광학 스펙트럼 영역에서 헤모글로빈이 주흡수체인 것으로 공지되어 있기 때문이다.

도 2a와 2b는 2중층 시스템으로부터 반사된 광의 평행한 I_{\parallel} 와 직각인 I_{\perp} 편광 성분의 스펙트럼을 도시한다. 이러한 측정에 있어서, 제 1 층은 글리콜에 포매된 비드를 함유하였다. 이러한 비드의 평균 직경은 $4.56\mu\text{m}$ 이었다. 이러한 크기의 표준 편차는 $0.03\mu\text{m}$ 였다. 제 1 층의 광학적 두께 τ 는 약 0.8이었다. 제 2 층은 광학적으로 두꺼웠고, 이의 산란 및 흡수 특성은 생물학적 조직의 산란 및 흡수 특성에 필적하였다. I_{\perp} 의 스펙트럼은 특성적 헤모글로빈 흡수 밴드에 의해 좌우된다. 동시에, 제 1 층에서의 $4.56\mu\text{m}$ 비드에 의해 산란된 광의 특성적 스펙트럼 특징, 즉, 겔보기 물질 구조 및 제 2 층에서의 헤모글로빈 흡수가 I_{\parallel} 의 스펙트럼에서 나타난다.

잔여 스펙트럼 ΔI 는 도 3a에 도시되어 있다. 헤모글로빈 흡수 특징은 나타나지 않았고, 제 2 층으로부터 유래되는 확산 백그라운드는 완전 제거되었다. 구로부터 산란되는 물질 구조 특성은 명백하다. 도 3b에 도시된 μm 에 상응하는 $d=4.56\mu\text{m}$, $\Delta d=0.03\mu\text{m}$ 및 $n=1.035$ 인 산란체에 대한 미 이론 표현을 이용한 비교는 고도의 정확성을 나타낸다. 사용된 매질 (물, 글리콜 및 글리세롤) 중 어느 하나에 포매된 상이한 비드 크기 ($5.7\mu\text{m}$, $8.9\mu\text{m}$ 및 $9.5\mu\text{m}$)를 이용한 측정에서 취득된 잔여 스펙트럼은 측정가능한 확산 백그라운드 성분을 지니지 않았으며, 미 이론에 부합하였다. 도 3b는 $9.5\mu\text{m}$ 비드에 대한 이론치와 측정치가 일치함을 나타낸다.

유사하게는, 글리세롤 및 글리콜 중의 $5.7\mu\text{m}$ 와 $8.9\mu\text{m}$ 에 대한 측정의 결과는 각각 도 3(c) 및 (d)에 도시되어 있다. 미 이론은 이러한 경우에서 측정된 값에 또한 상응한다. 고주파수 물질 구조는 상대 굴절률이 작아질수록 감소한다. 주파수 발전 법칙은 명백한 상태로 남아있다. 측정 결과, 기기는 0.05의 낮은 광학 두께의 비드 용액으로부터의 시그널을 검출할 수 있는 것으로 나타났다. 스펙트럼에서 나타난 작은 불일치는 사용된 광학 요소의 파장 의존성에 대한 기기의 불완전한 조정에 기인할 수 있다. 빔은 완전하게 동일 선상에 있지 않으므로, 빔이 편광기와 분석기 요소를 통과하는 경우 두 개 채널로부터의 편광된 시그널에서 약간의 결합이 발생한다. 또한, 사용된 빔 스플리터는 s 및 p 편광된 빔에 대해 상이한 반사도를 지닌다. 그러나, 백색 표준만을 사용하는 경우, 두 개 채널내의 시그널은 임의의 파장 불균일성에 대해 교정되고, 시그널의 검정을 위해 추가로 사용되었다.

세포 단일층을 이용한 측정을 수행하고, 결과를 도 4 내지 6과 관련하여 설명한다. 단일층하에서의 BaSO_4 분체와 인간 혈액의 용액을 함유하는 겔층을 사용하여 하부 조직을 나타낸다. BaSO_4 분체 및 혈액의 농도는 생물 조직의 광학 특성에 필적하도록 조정되었다. 다음과 같은 세가지 유형의 세포를 측정하였다: 정상적인 창자 세포, T84 결장암 세포 및 섬유아세포. 이러한 측정은 비즈(beads)의 측정과 유사하였다. 그러나, 세포의 핵은 잔물결 구조가 실질적으로 제거된 보다 큰 크기 분포 뿐만 아니라 비즈의 굴절률보다 작은 상대적인 굴절률을 지녔다. 미의 이론에 따라 관찰된 잔여 스펙트럼의 피팅(fitting)이 수행되었다. 피팅 과정에서의 세가지 매개변수는 핵의 평균 크기, 크기에 있어서의 표준 편차(가우스 크기 분포가 이용되었다) 및 상대적인 굴절률이었다.

정상적인 창자 세포의 경우, 최적의 피팅은 $d=5.0\mu\text{m}$, $\Delta d=0.5\mu\text{m}$ 및 $n=1.045$ 를 사용하여 취득되었다(도 4 참조). 섬유아세포의 경우, 최적의 피팅은 $d=7.0\mu\text{m}$, $\Delta d=1.0\mu\text{m}$ 및 $n=1.051$ 을 사용하여 취득되었다. T84 결장암 세포의 경우, 최적의 피팅은 $d=9.8\mu\text{m}$, $\Delta d=1.5\mu\text{m}$ 및 $n=1.04$ 를 사용하여 취득되었다(도 5 참조).

이들 결과를 확인해 보기 위해, 세포핵의 평균 크기 분포가 광 검경을 사용하여 측정되었다. 이러한 크기 및 이들의 표준 편차는 미의 이론으로부터의 매개변수와 일치하였다. 정상적인 T84 세포에 대하여 취득된 크기 분포를 보여주는 막

대 그래프는 도 6에 도시되어 있다. 평균 크기의 정확도는 $0.1\mu m$ 인 것으로 추정되며; n 에서의 정확도는 0.001로서 추정된다. 암세포에 대하여 수득된 n 의 보다 큰 값은 착색된 조직 섹션의 통상의 조직병리학에서 수득된 암세포 핵의 조직병리학과 일치한다는 사실에 주목해야 한다.

후방으로 산란된 시그널은 핵의 평균 크기 d , 크기에 있어서의 표준 편차 Δd 및 상대적인 굴절률이 변화되는 경우에 미의 이론으로 설명될 수 있다. 미의 이론에서, d 와 n 의 의존관계가 항상 $(n-1)d$ 적(積)이 되는 것이 아니라는 점에 주목해야 한다. 이와 같이, 잔여 스펙트럼은 d 와 n 을 동시에 추출해낼 수 있을 정도로 충분한 정보를 가지고 있다.

단층에 대한 크기 분포는 광 검경에 필적하였고 세가지 모든 세포주에 대하여 잘 일치하였다. 크기 및 표준 편차 추출의 정확도는 약 $0.1\mu m$ 이었고, 이는 방법이 동일한 기관의 양성 및 비암성 세포를 포함한 여러 가지 세포 유형의 핵을 분화시키는데 유용하게 한다.

(핵에서의 DNA 및 단백질의 양과 관련이 있을 수 있는) 세포핵의 중대 및 세포핵의 굴절률 변화를 검출하는 능력은 임상 의학에서 가치가 있다.

조직 진단 방법은 광이 조직의 표면상의 지점으로 전달되고, 이들 각 지점에서 수집되고 분석되며, 이들 각 지점에서 수집되어 분석될 수 있는 진단 장치에서 수행될 수 있다. 생체내 시스템에서, 광섬유는 광을 전달하고 수집하는데 사용된다. 섬유 프로브는 내시경 생검 채널 또는 어떠한 유사한 장치(방법과 연구 대상 기관의 유형에 따라 다름) 내에 삽입될 수 있다. 편광기 및 분석기는 전달 및 수집 섬유의 전방에 있는 프로브의 팁에 정위될 수 있다. 이러한 기구는 내시경에 의한 수행 동안 생체내에서의 전암증상 변화를 실시간으로 검출하는데 사용될 수 있다.

이러한 프로브 시스템(40)은 도 7에 개략적으로 도시되어 있다. 이러한 시스템(40)은 프로브(50)를 통해 연장되어 있는 전달 섬유(44)에 광학적으로 결합되어 있는 광대역 광원(42)을 포함한다. 도 7에 개략적으로 도시된 바와 같이, 프로브(50)는 내시경(48) 내에 채널을 통해 삽입될 수 있지만, 프로브(50)는 별도로 사용되도록 구성될 수 있다. 이하에 기술된 바람직한 구체예에서, 광원으로부터의 광은 프로브(50)의 편광기를 통해 원위 단부로 유도된다. 그러나, 편광 보존 광섬유를 사용하는 또 다른 구체예에서, 편광기(26)는 프로브 섬유(44)의 근위 단부에서 편광된 광(46)을 섬유를 통해 유도하는데 사용될 수 있다. 유사하게, 수집 섬유(65 및 66)의 근위 단부는 소정의 편광 성분을 다중채널 섬유 분광계(54) 내로 전달하는데 편광 요소(각각 65 및 66)를 사용할 수 있다. 이후, 데이터는 컴퓨터(56)에 의해 가공되고, 컴퓨터(56)에 저장되며, 컴퓨터 메모리에 저장되고, 필요에 따라, 디스플레이(60)에서 디스플레이될 수 있다.

프로브 시스템은 도 8a 및 8b에 도시된 바와 같은 편광기를 채택하고 있는 원위 단부를 지닌 광섬유 프로브를 포함할 수 있다.

도 8a 및 8b는 생체내 진단을 위해 편광된 광을 사용하기 위한 프로브(100)의 원위 단부를 도시하는 도면이다. 도 8a는 세 개의 섹션, 즉, 내측 전달 섬유 및 상이한 편광 성분들을 수집하는 2개 세트의 수집 섬유(150 및 152)으로 분할되는 광섬유 장치를 도시한다. 도 8b의 횡단면도는 광을 조직(140)으로 전달하기 위한 섬유(156)를 보여주고 있다. 이들은 도 8b의 횡단면도로 도시되어 있는 편광기(120)를 통해 통과되어야 한다. 편광 요소는 적어도 2개의 부분 또는 요소(122 및 126)로 분할된다. 광섬유(152)는 조직 표면으로부터 후방으로 반사된 광을 수집하도록 배열된다.

후방으로 산란된 광은 입사광에 대하여 평행한 성분과 수직인 성분에 상응하는 2개의 편광 성분을 지닌다. 상기 2개의 성분은 2개 섹션의 고리 부재(122 및 126)에 의해 도시된 2개의 상이한 복굴절 분석기에 의해 구별된다. 제 1 요소(122)는 평행한 성분이 통과되게 하며, 반면에 제 2 성분(126)은 수직 성분이 통과되게 한다. 요소(122)의 일부는 섬유(156)으로 나오는 광을 편광시킨다. 섬유가 적은 수의 개구를 가져 매우 작은 각도의 광을 수집하기 때문에, 개방되어 있는 개구 표면(142)과 섬유 단부 사이의 거리(136)를 조직 표면(140)으로 연장시키는 것이 필요하다. 이러한 연장 거리는 5mm 만큼의 거리일 수 있다. 가(假)적 내부 반사를 피하기 위해, 굴절률(n_1)을 갖는 차폐물(132)의 유리 블록보다 작은 굴절률(n_2)을 갖는 유리 블록이 도시되어 있다. 차폐물(132)은 경계선을 타격하는 광이 외부로 반사되어, 이후, 차폐물(132)의 외벽상에 흡수 코팅에 의해 흡수되도록 흡수 부재로 코팅될 수 있다. 유리 요소(130)는 후방으로 산란되는 상대적인 시그널 세기를 증가시키는 것으로 기술되어 있기 때문에 조직 표면으로부터 검경 반사를 피하기 위해 기술어져 있다. 2개의 직교 편광을 갖는 광은 분리되어 검출 및 분석을 위해 2개의 분광계 채널에 결합된다.

광섬유 프로브(160)의 또 다른 바람직한 구체예는 도 9a - 9c에 도시되어 있다. 이러한 구체예에서, 전달(156) 및 수집(162) 섬유는 원위의 환형 하우징(166)에 부착되어 있는 가요성 튜브(164)에 하우징되어 있다. 하우징(166)은 방해석, 석영 또는 사파이어와 같은 복굴절 결정일 수 있는 편광기(168) 및 섬유 리테이너(106)를 포함한다. 운반 섬유(156)은 공급원(42)로부터 광을 정상 광선(17)을 개구(175) 및 윈도우(178)를 통해 전달하는 편광기(168)에 전달한다. 개구(175)를 통해 반사되는 광은 정상 성분(170) 및 이상 성분(172)을 갖는다. 수직 성분은 섬유(162)에 의해 수집되고 평행 성분은 섬유(161)에 의해 수집된다. 운반 섬유(156)은 결정(168)의 광학 축(176)을 따라 정위된다. 섬유(161, 156)은 흡수판(178)의 개구(175)를 따라 정렬된다.

본 발명이 이의 바람직한 구체예에 대해 참조와 함께 상세하게 제시하고 설명하였지만, 형태 및 세부사항에 있어서 다양한 변화가 첨부된 청구항에 의해 한정된 바와 같이 본 발명의 정신 및 범위를 벗어남이 없이 그 안에서 수행될 수 있음이 당업자에 의해 이해될 것이다.

(57) 청구의 범위

청구항 1.

관심있는 영역으로부터 되돌아오는 편광을 검출하고, 검출된 편광을 분석함으로써 관심있는 영역의 특징을 결정하는 것을 포함하여, 편광을 분석하는 방법.

청구항 2.

제 1항에 있어서, 관심있는 영역내의 조직 세포의 크기를 결정하는 것을 추가로 포함함을 특징으로 하는 방법.

청구항 3.

제 1항에 있어서, 조직으로부터 되돌아오는 광의 편광되지 않은 성분을 제거하는 것을 추가로 포함함을 특징으로 하는 방법.

청구항 4.

제 1항에 있어서, 광섬유 프로브를 제공하고 이 프로브를 사용하여 조직으로부터의 편광을 수집하는 것을 추가로 포함함을 특징으로 하는 방법.

청구항 5.

제 1항에 있어서, 편광된 후방산란광을 검출하고 검출된 광을 사용하여 스펙트럼(이 스펙트럼은 300 nm 내지 1200 nm의 파장을 포함한다)을 형성시키는 것을 추가로 포함함을 특징으로 하는 방법.

청구항 6.

제 1항에 있어서, 검출된 편광을 사용하여 관심있는 영역의 굴절률을 결정하는 것을 추가로 포함함을 특징으로 하는 방법.

청구항 7.

제 1항에 있어서, 조직 샘플로부터 광을 검출하는 것을 추가로 포함함을 특징으로 하는 방법.

청구항 8.

제 7항에 있어서, 광대역의 광원 및 필터 휠을 제공하고 조직 샘플상으로 편광을 전달하는 것을 추가로 포함함을 특징으로 하는 방법.

청구항 9.

제 1항에 있어서, 관심있는 영역으로부터 되돌아오는 광의 편광 성분을 분리시키고 검출된 광으로부터 비극성화된 후방 산란광을 제거하기 위해 두 개의 성분을 분석하는 것을 추가로 포함함을 특징으로 하는 방법.

청구항 10.

광원에 광학적으로 커플링되어 있으면서 조직상으로 편광을 전달하는 광섬유 케이블; 및 조직으로부터 수용되는 광의 편광 성분을 검출하는 검출기 시스템을 포함하는, 조직의 층을 측정하기 위한 광섬유 프로브.

청구항 11.

제 10항에 있어서, 광원으로부터의 광을 편광시키는 편광기(이 편광기는 광섬유 케이블의 원위 말단에 위치되어 있다)를 추가로 포함함을 특징으로 하는 프로브.

청구항 12.

제 10항에 있어서, 광섬유 케이블을 통해 조직으로부터 되돌아오는 편광 성분을 분리시키는 분석기를 추가로 포함함을 특징으로 하는 프로브.

청구항 13.

제 10항에 있어서, 프로브가 삽입되는 채널을 가지는 내시경을 추가로 포함함을 특징으로 하는 프로브.

청구항 14.

제 12항에 있어서, 분석기가 편광 빔 스플리터를 포함함을 특징으로 하는 프로브.

청구항 15.

제 12항에 있어서, 분석기가 광섬유 케이블의 원위 말단에 위치되어 있음을 특징으로 하는 프로브.

청구항 16.

제 10항에 있어서, 프로브의 원위 말단에 다수의 편광 필터를 추가로 포함함을 특징으로 하는 프로브.

청구항 17.

제 10항에 있어서, 광원이 광대역의 광원 및 필터 휠을 포함함을 특징으로 하는 프로브.

청구항 18.

제 10항에 있어서, 광섬유 프로브에 광학적으로 커플링된 스펙트로미터를 추가로 포함함을 특징으로 하는 프로브.

청구항 19.

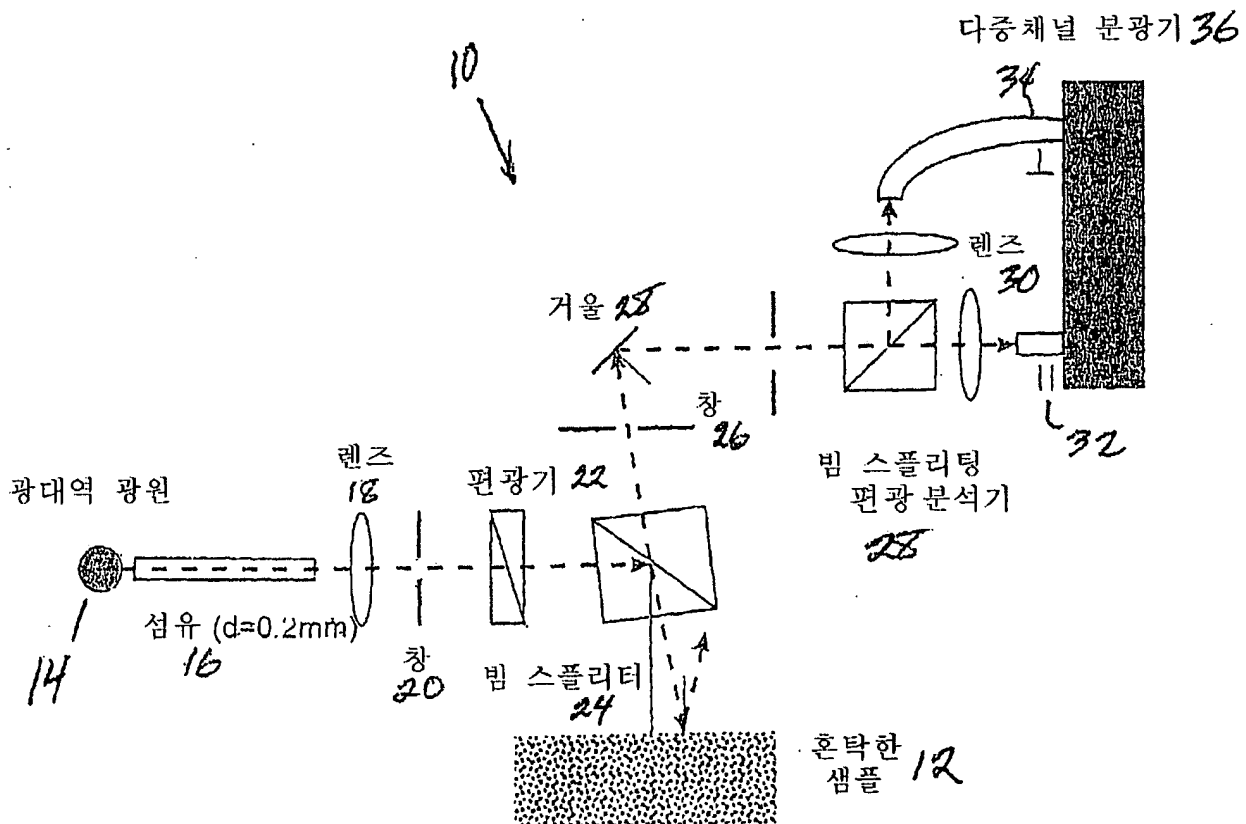
제 10항에 있어서, 스펙트럼(이 스펙트럼은 300 nm 내지 1200 nm의 파장을 포함한다)을 저장하는 전자 기억장치를 추가로 포함함을 특징으로 하는 프로브.

청구항 20.

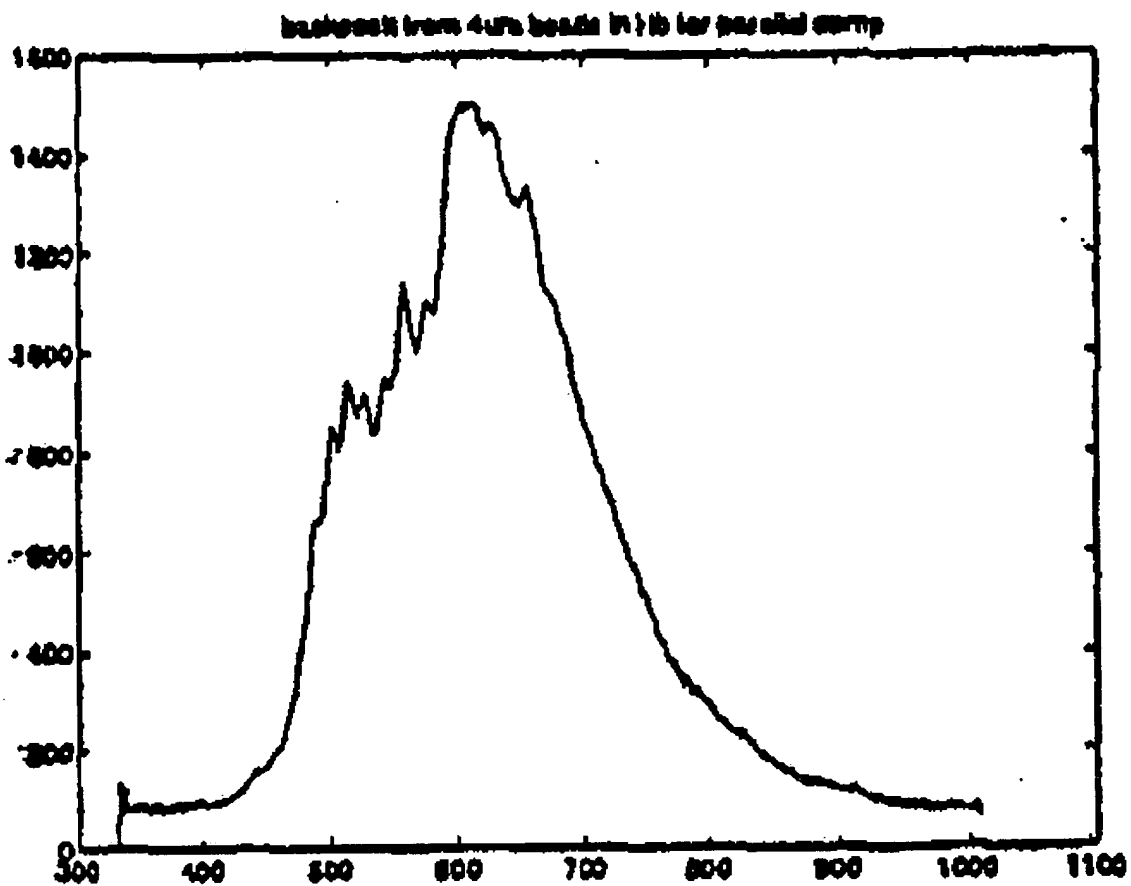
제 10항에 있어서, 조직의 표층이 정상인지 상피 형성장애인지를 결정하기 위해 검출된 스펙트럼을 분석하는 컴퓨터를 추가로 포함함을 특징으로 하는 프로브.

도면

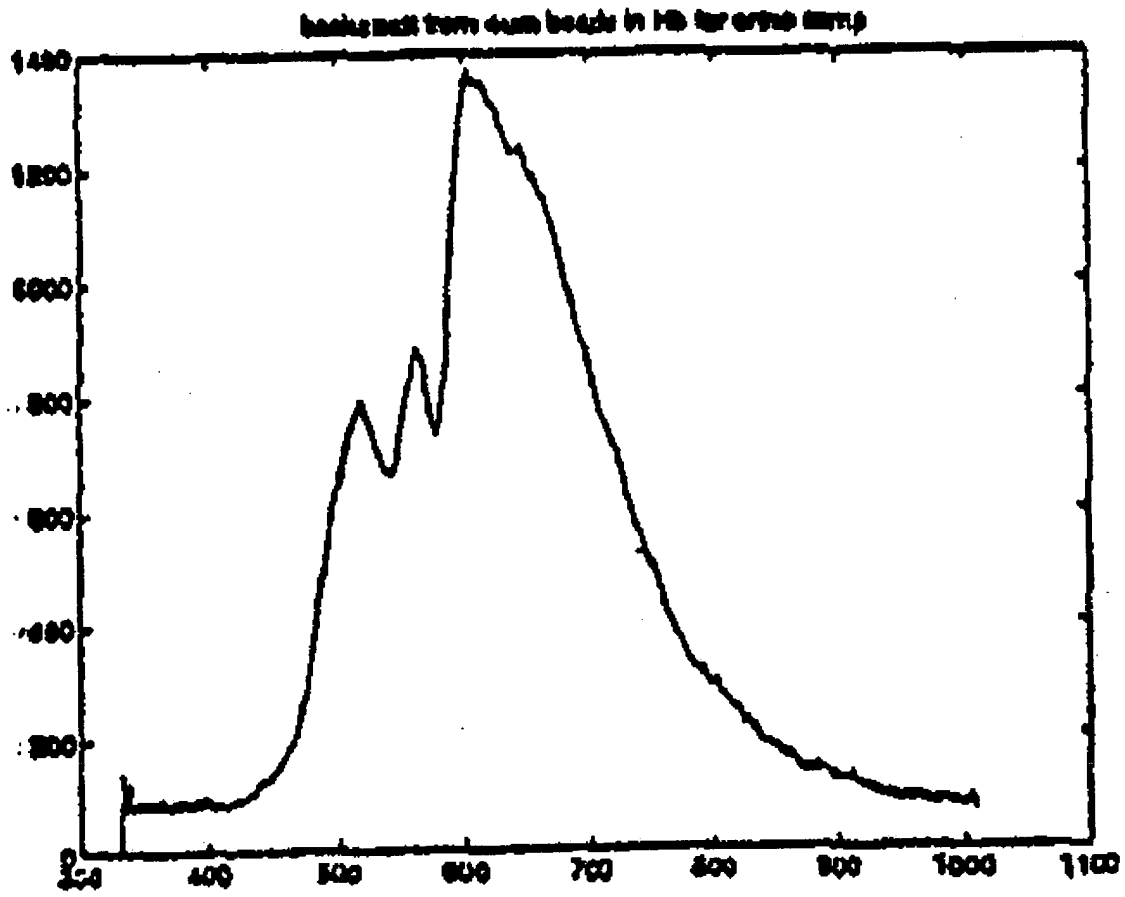
도면 1



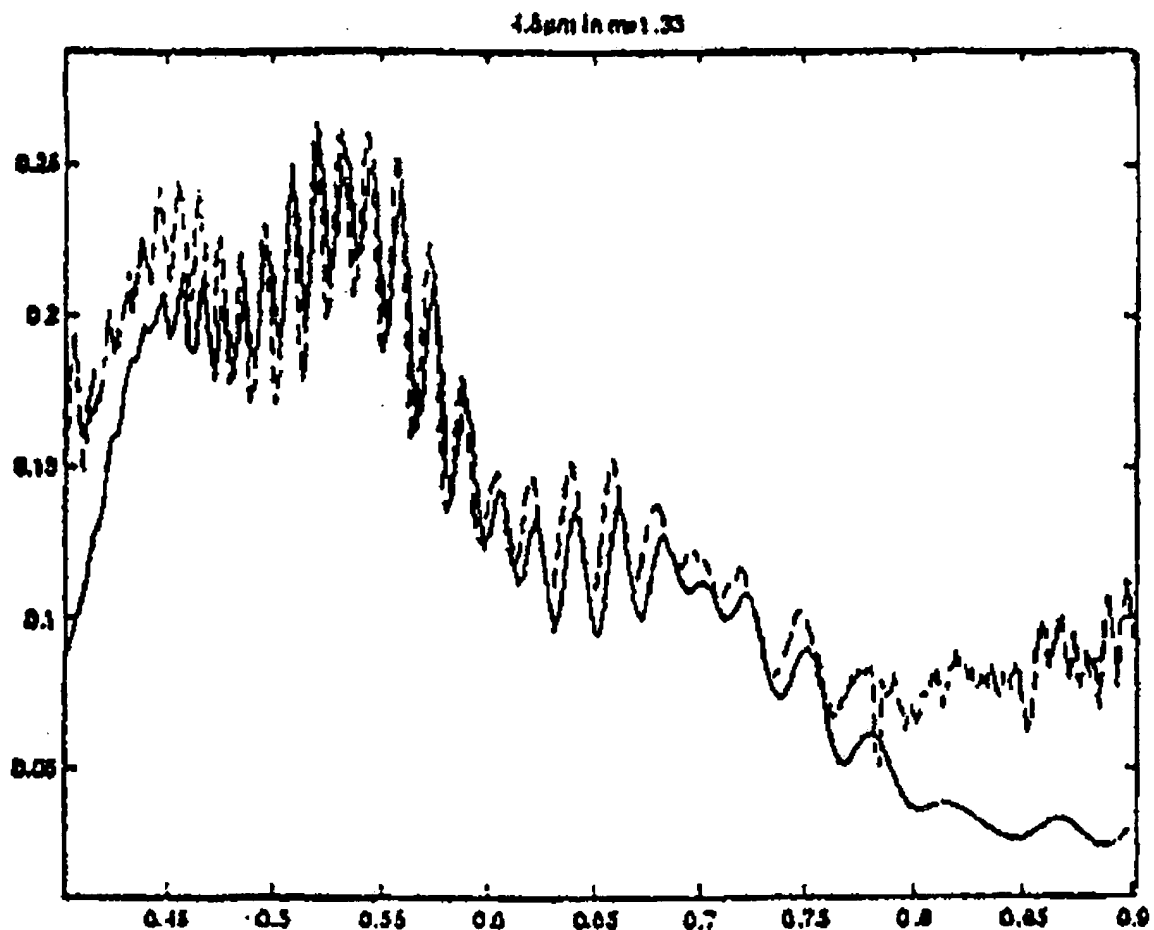
도면 2a



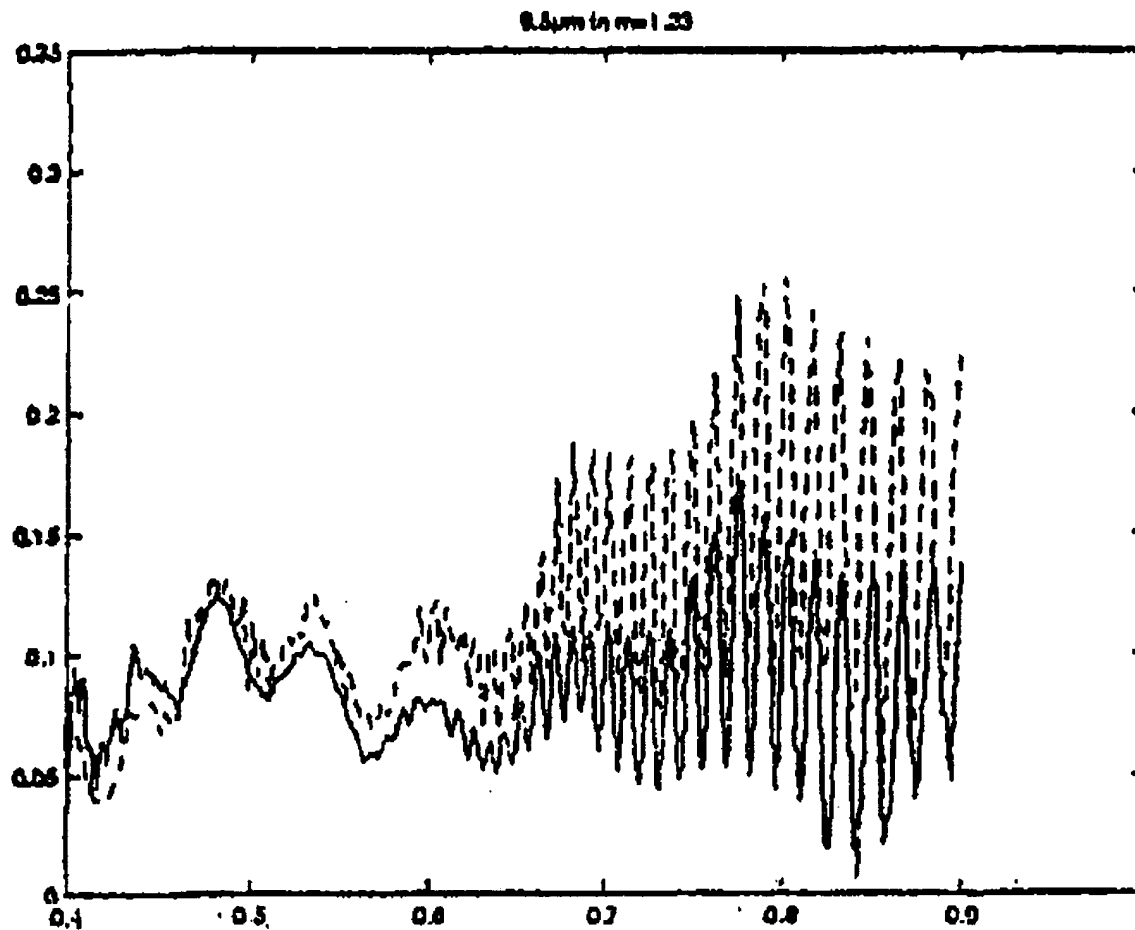
도면 2b



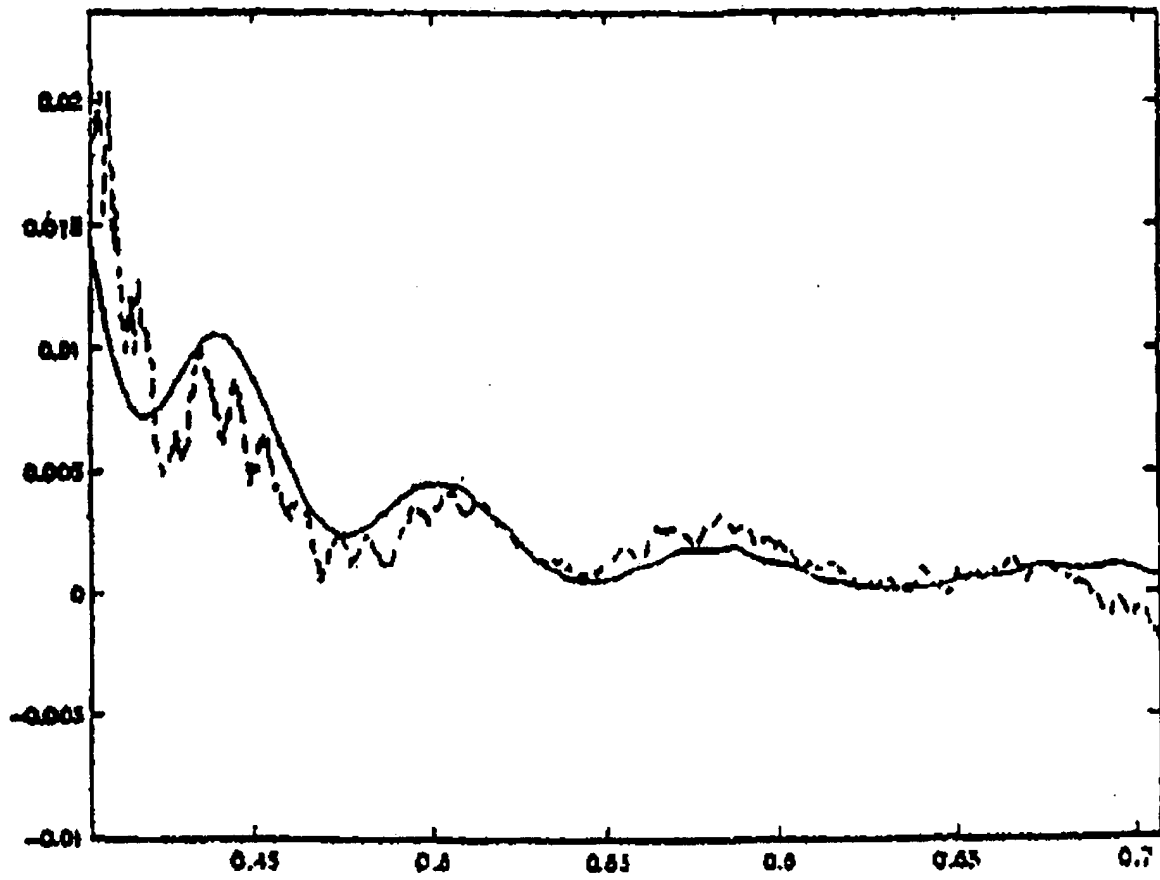
도면 3a



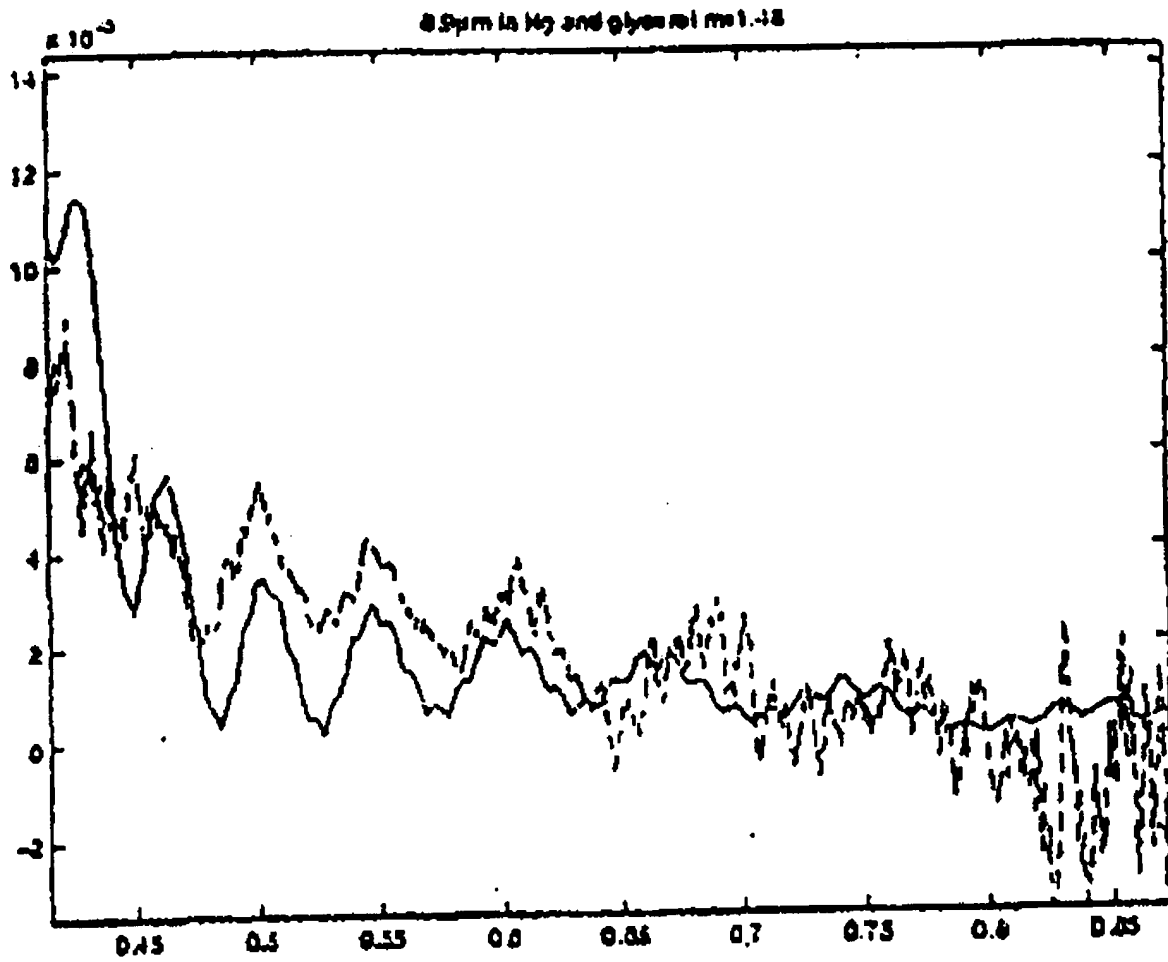
도면 3b



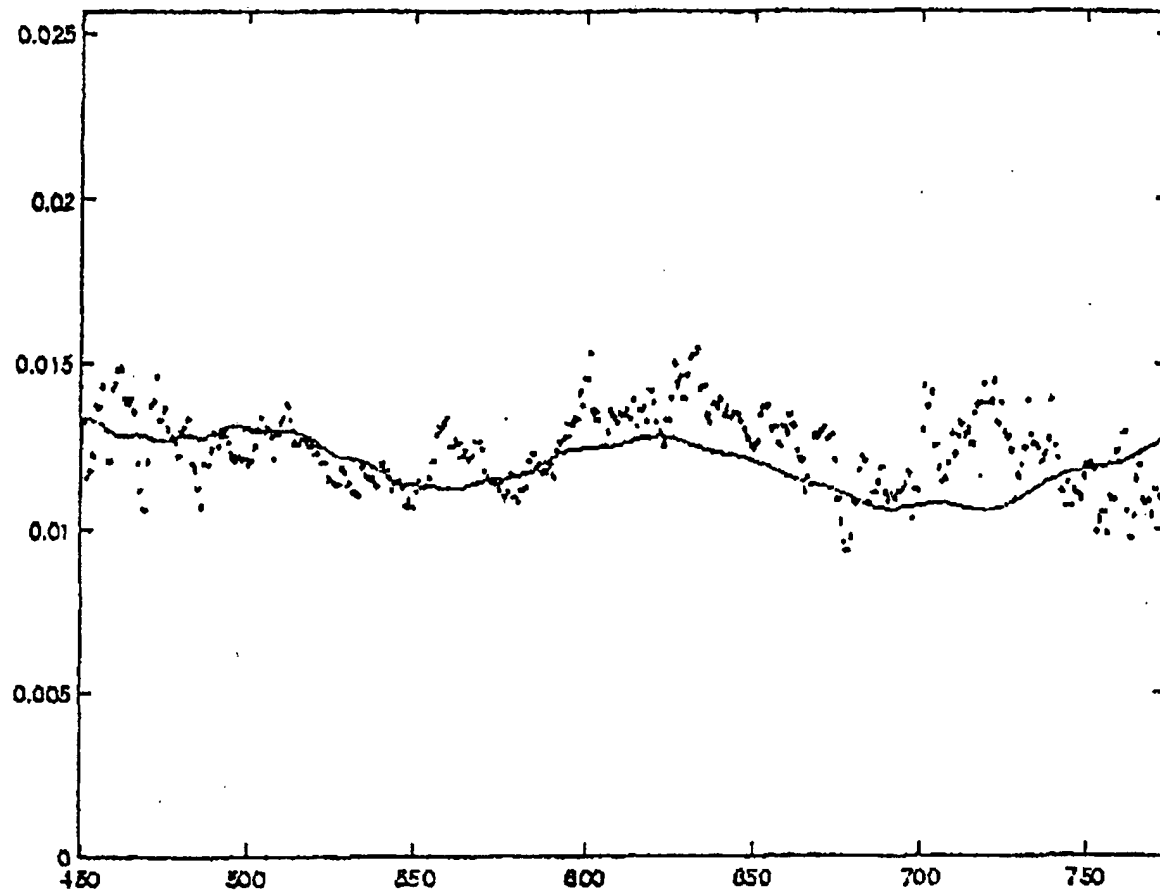
도면 3c



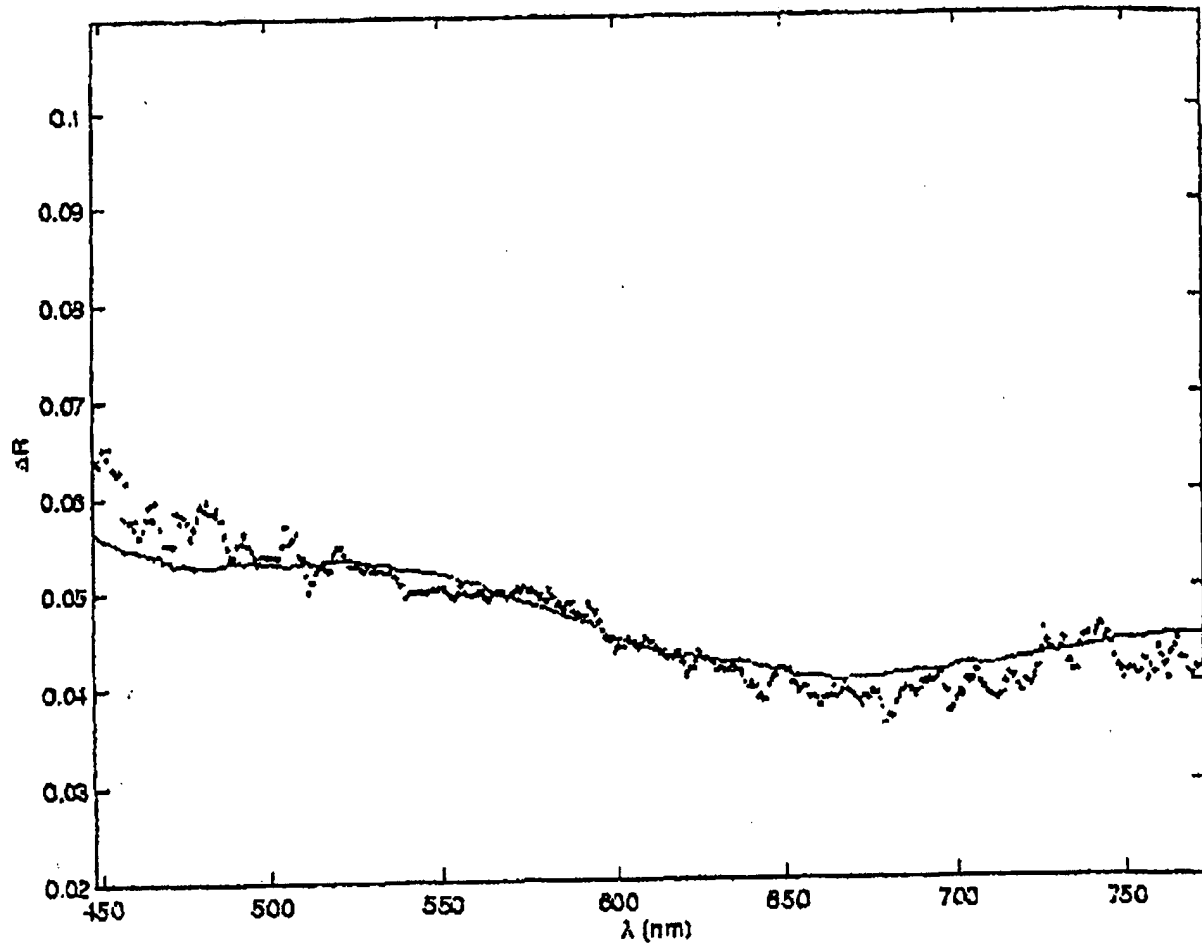
도면 3d



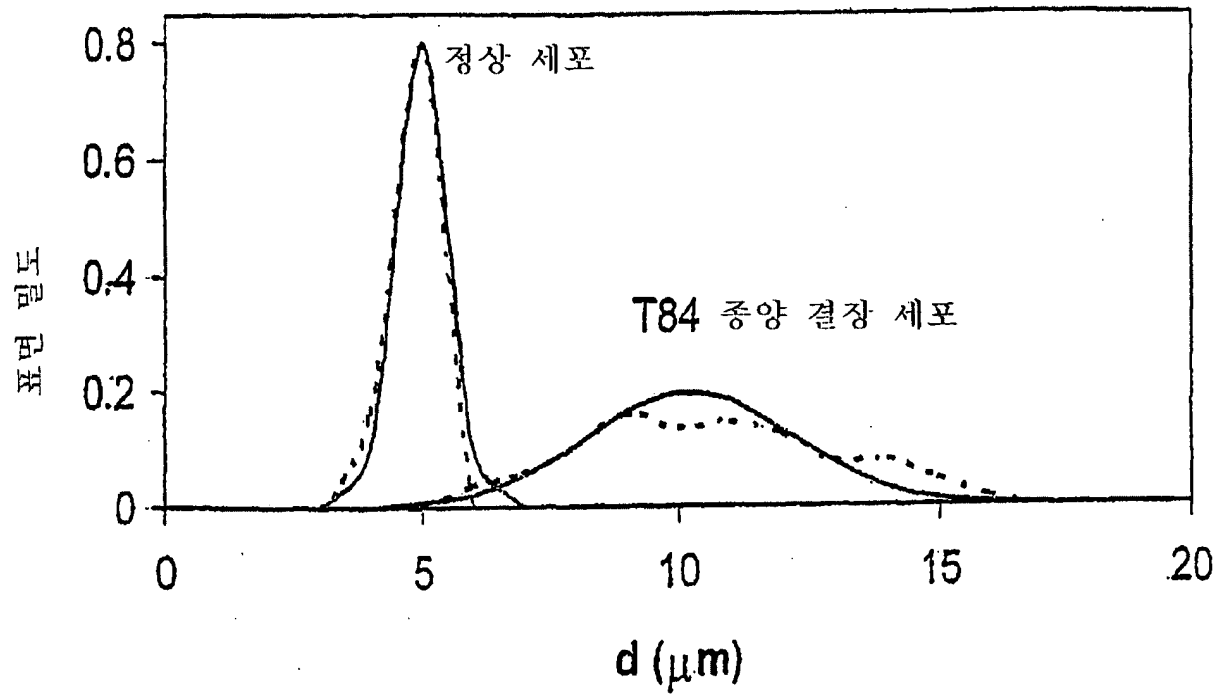
도면 4



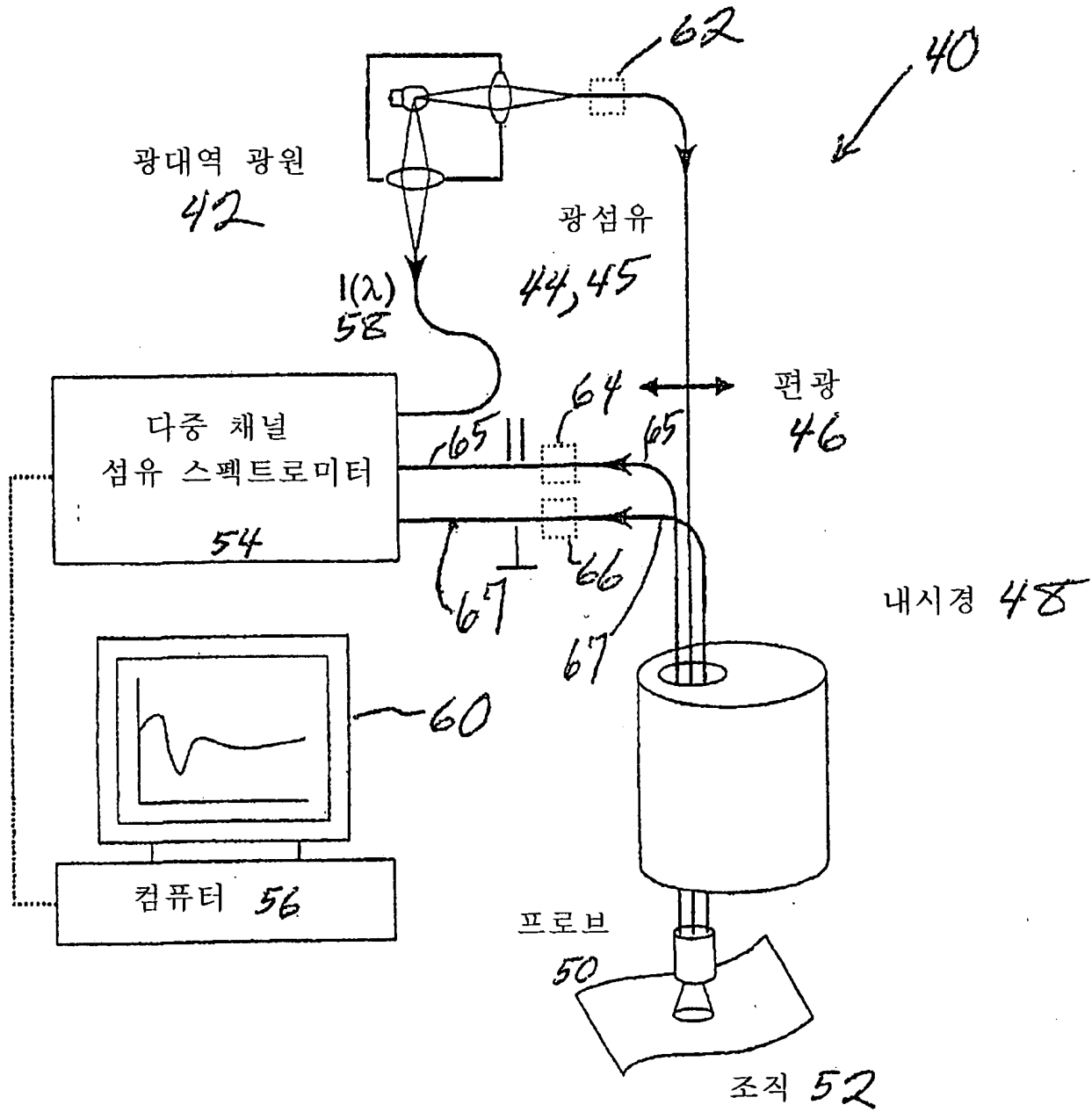
도면 5



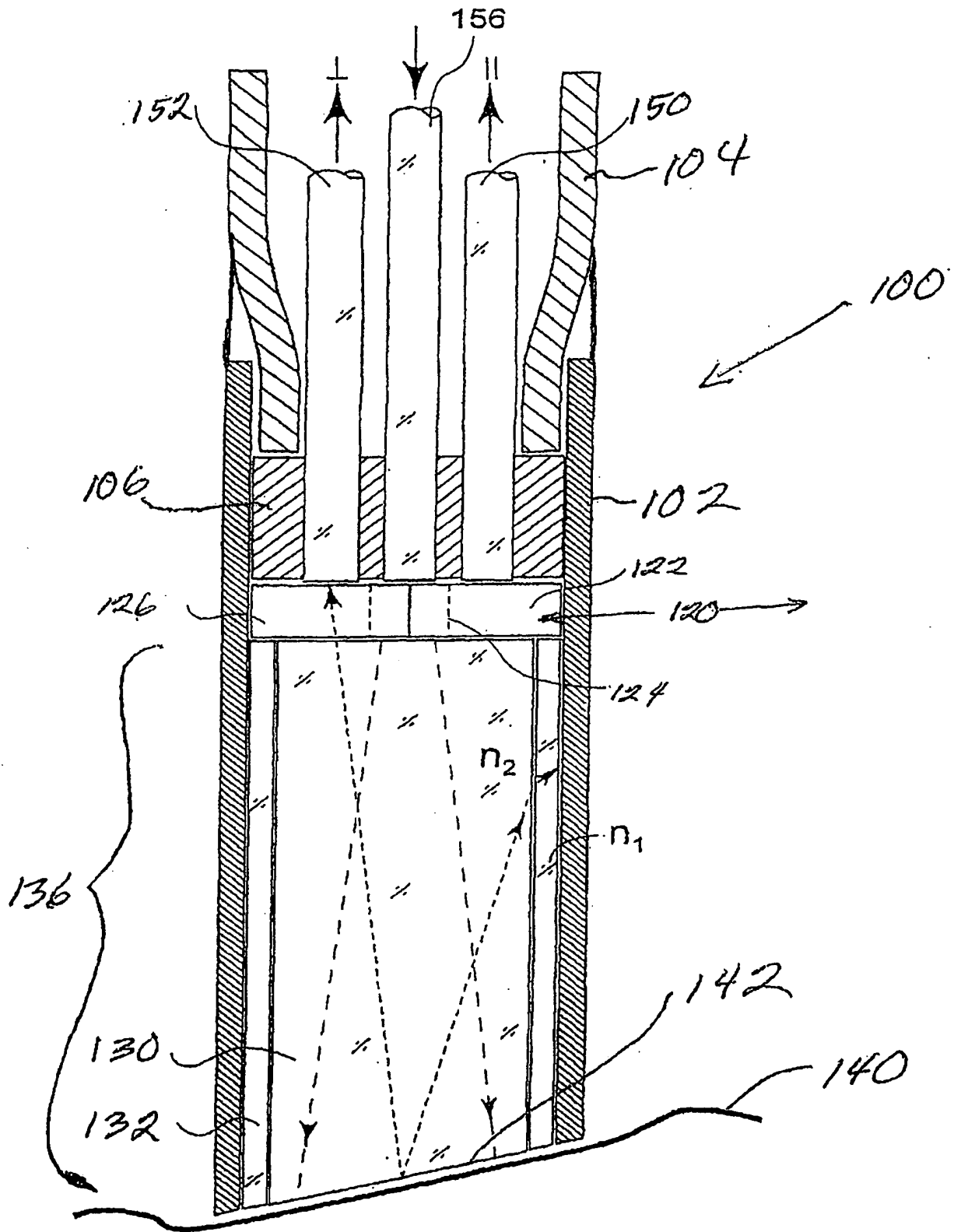
도면 6



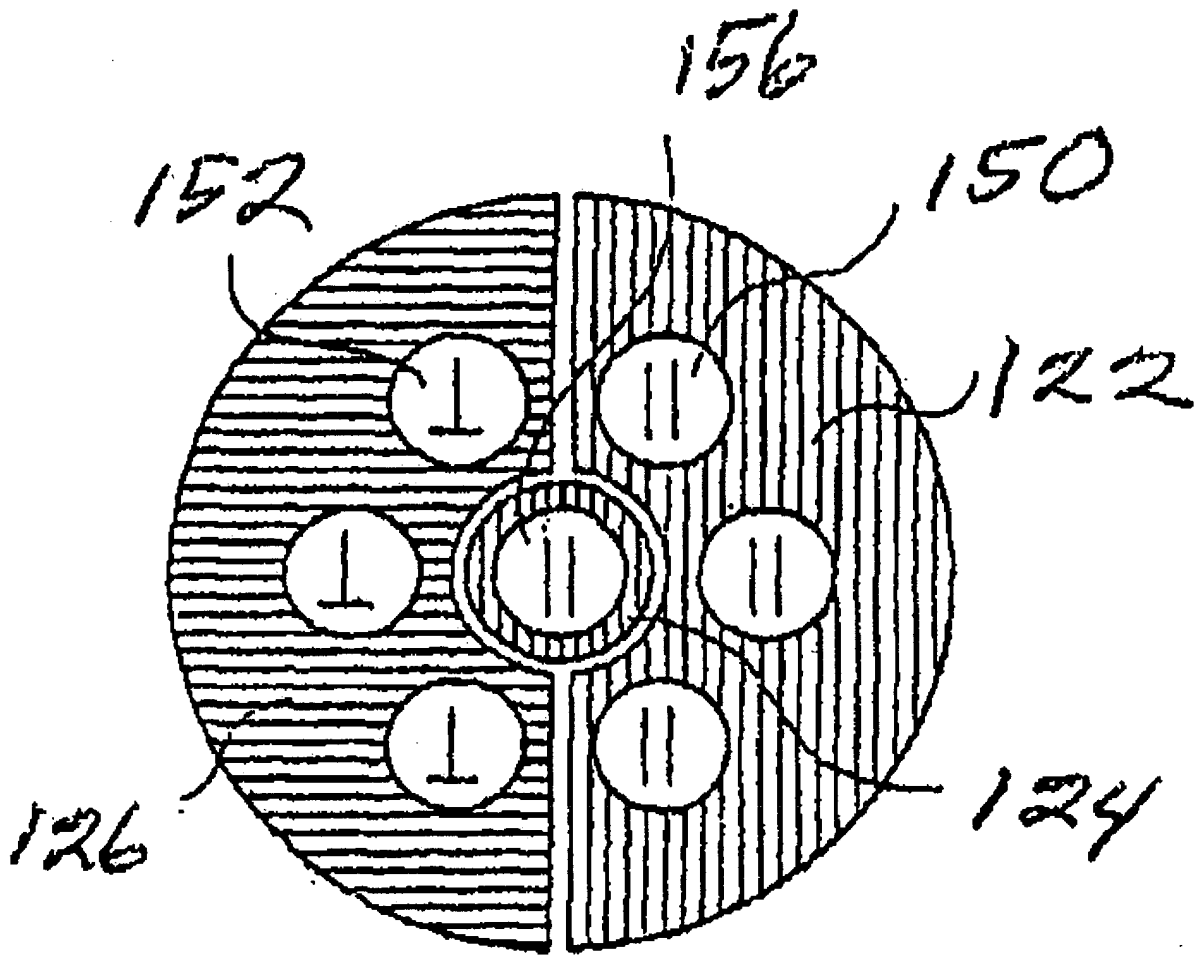
도면 7



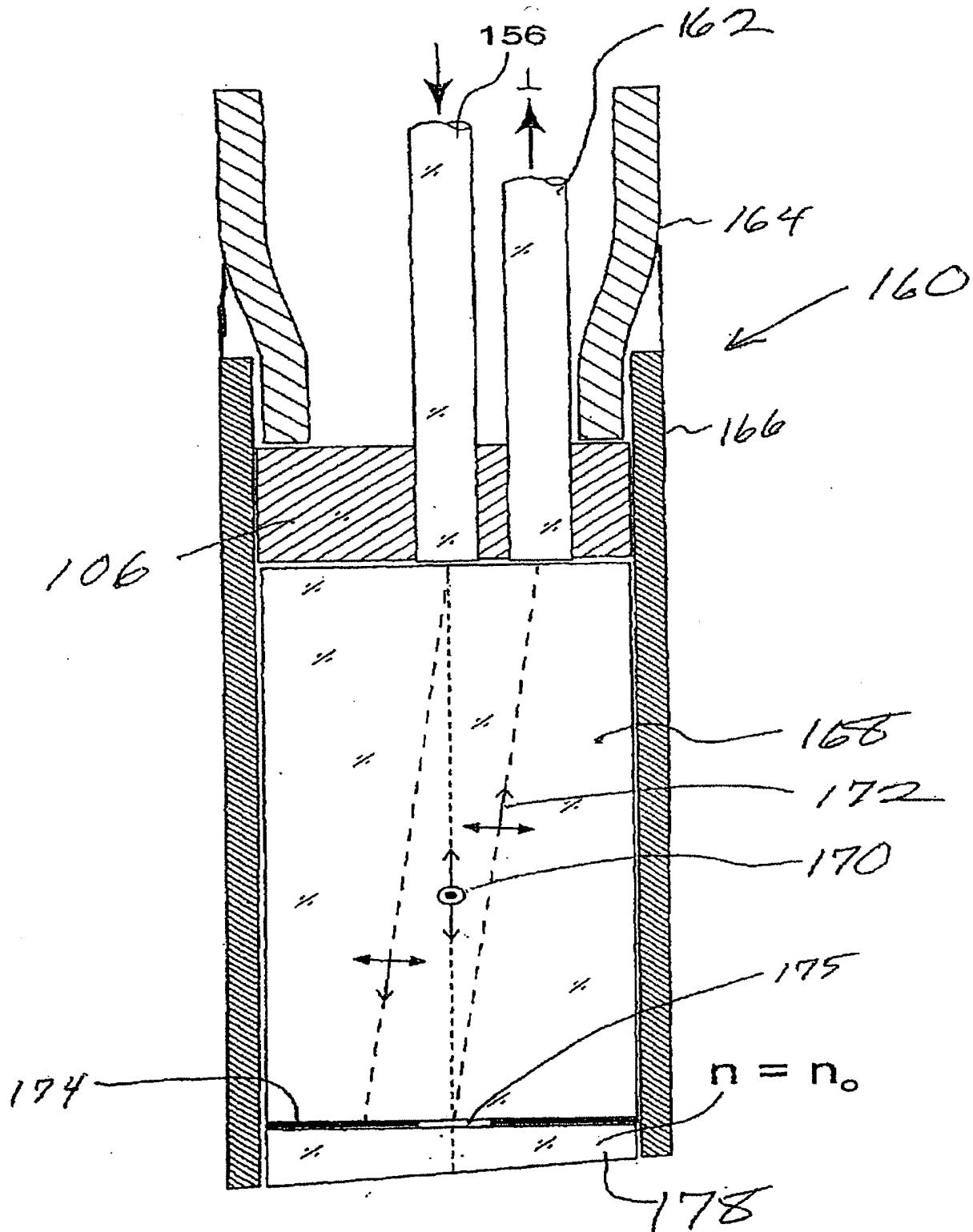
도면 8a



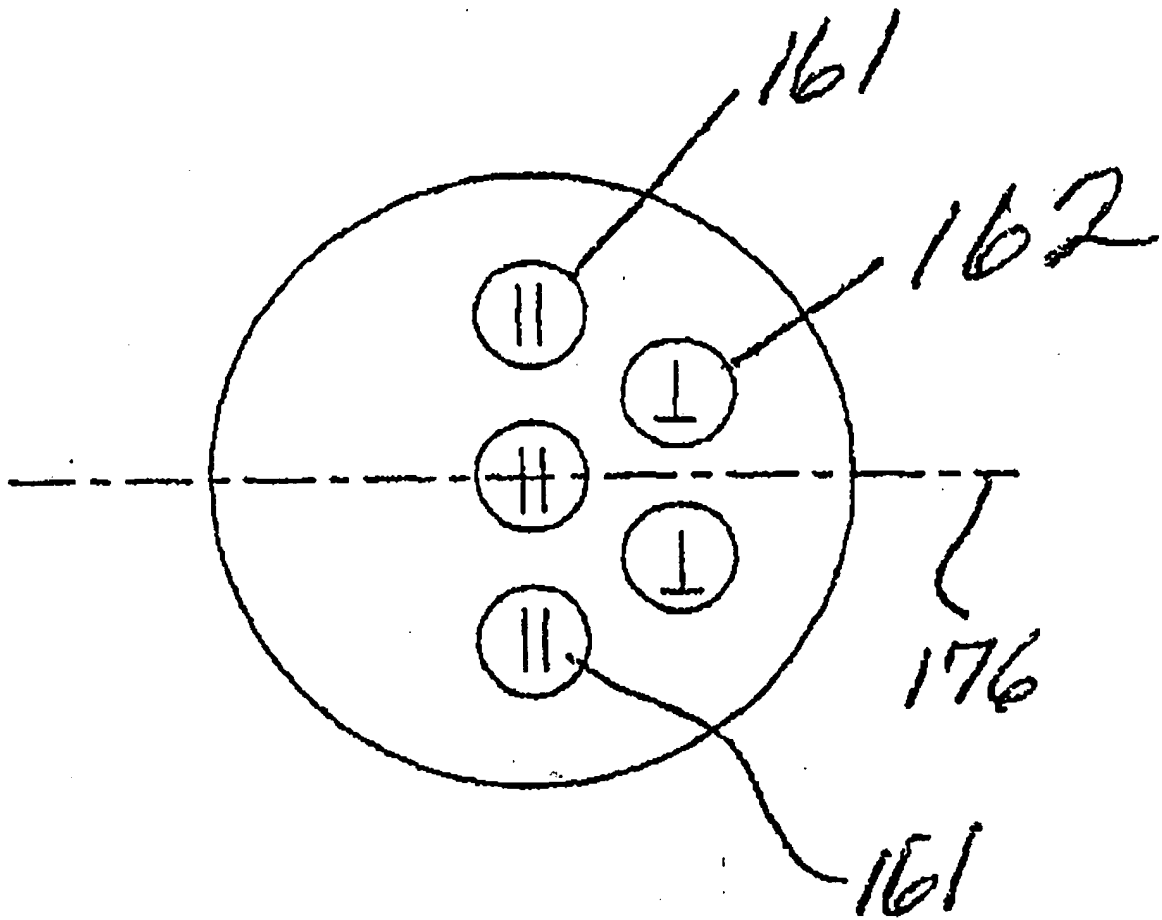
도면 8b



도면 9a



도면 9b



도면 9c

